

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Teori

1. Mencit

Mencit diperkirakan 40-80% lebih sering dimanfaatkan sebagai hewan coba dalam penelitian dibandingkan dengan hewan coba lainnya. Mencit dimanfaatkan sebagai hewan coba karena siklus hidupnya yang *relative* pendek, dengan jumlah anak perkeltahiran yang banyak, variasi sifat-sifatnya tinggi, mudah dikembangbiakan, juga mudah untuk ditangani, dan karakteristik reproduksinya mirip hewan mamalia lainnya. Mencit juga dapat hidup mencapai umur 1-3 tahun. Mencit yang digunakan adalah mencit berwarna putih, dengan keadaan sehat memiliki ciri aktivitas dan juga tingkah laku yang normal (R. A. Nugroho, 2018).

Mencit memiliki bulu pendek halus berwarna putih serta ekor berwarna kemerahan dengan ukuran lebih panjang dari pada badan dan kepala, dengan bentuk hidung kerucut terpotong, bentuk badan silindris agak membesar kebelakang, dengan mata berwarna merah. Ciri-ciri lain mencit secara umum adalah tekstur rambut lembut dan halus, bentuk hidung kerucut terpotong, bentuk badan silindris dengan agak membesar kebelakang memiliki warna rambut putih, mata merah. Mencit liar atau mencit rumahan adalah hewan satu spesies dengan mencit laboratorium, namun mencit laboratorium merupakan keturunan dari mencit liar yang sudah melalui peternakan selektif (R. A. Nugroho, 2018).

Berdasarkan *Integrated Taxonomyc Information System* (ITIS), taksonomi mencit (*Mus musculus*) sebagai berikut (Khairani, 2014).

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Chordata
Class	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Family	: Muridae
Genus	: Mus
<i>Spesies</i>	: <i>Mus musculus</i>



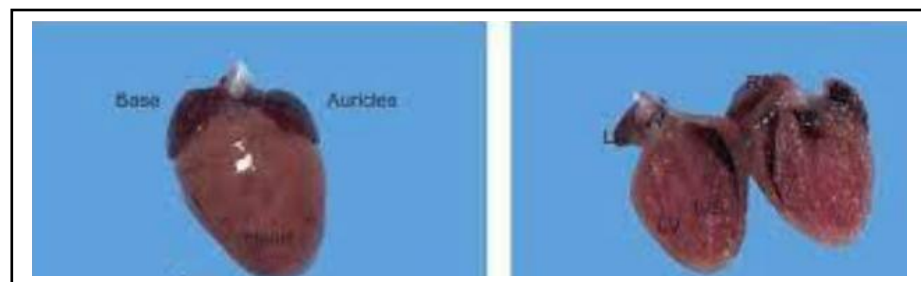
Sumber: (Khairani, 2024)

Gambar 2. 1 Mencit (*Mus musculus*)

a. Jantung Mencit

Jantung mencit memiliki 4 ruang yang terdiri atas 2 atrium yang dipisahkan oleh septrum interatrial dan juga 2 ventrikel yang dipisahkan oleh septrum interventrikular, juga terdapat septrum atrioventrikular yang terletak diantara septrum interatrial dan septrum interventrikular, oleh karena itu mencit dikatakan memiliki ciri anatomi dasar yang sangat mirip dengan manusia (R. A. Nugroho, 2018).

Sundberg, (2022) menjelaskan bahwa jantung mencit memiliki jumlah inti sel yang lebih banyak daripada organ mencit yang lain, jantung mencit juga memiliki kandungan lemak yang lebih sedikit dibandingkan dengan organ hati mencit, strukturnya yang tidak mudah hancur juga merupakan salah satu kelebihan yang menjadikan penggunaan jantung mencit sebagai sampel penelitian merupakan pilihan yang sudah tepat.



Sumber: (Nugroho, 2018)

Gambar 2. 2 Jantung Mencit

2. Histopatologi

Histopatologi merupakan bagian dari ilmu kedokteran yang mempelajari mulai dari struktur serta sifat dari suatu jaringan untuk mendiagnosa adanya penyakit. Pemeriksaan histopatologi dapat dilakukan dengan metode histoteknik, metode ini merupakan proses pembuatan sediaan

yang berasal dari sampel tertentu yang melalui beberapa tahap sehingga akhirnya akan diinterpretasi oleh dokter Spesialis Patologi Anatomi. Histopatologi ini digunakan untuk melihat perubahan patologis pada jaringan dan perubahan suatu sel pada jaringan (Sumanto, 2014).

Proses pengiriman sampel jaringan ke laboratorium patologi merupakan proses awal dari pengerjaan jaringan (histoteknik), kemudian dilakukan pemotongan organ jantung mencit, fiksasi jaringan, penjernihan (*clearing*), pembendaman (*embedding*), pengeblokan (*blocking*), pemotongan (*sectioning*) hingga proses pewarnaan preparat sediaan jaringan (Musyarifah dan Agus, 2018). Berikut ini adalah proses pembuatan preparat sediaan jaringan dengan pewarnaan hematoxylin eosin:

a. *Euthanasia*

Euthanasia merupakan suatu teknik yang digunakan untuk mematikan hewan uji secara manusiawi tanpa menimbulkan rasa sakit. Metode *euthanasia* dipilih tergantung pada spesies hewan uji yang dipilih. Berbagai macam teknik euthanasia yaitu euthanasia secara fisik, *euthanasia farmakologik* yang non-ilmiah, *euthanasia* dengan zat inhalan, *euthanasia* dengan gas *non anestetik* serta *euthanasia* dengan menggunakan zat-zat kimia tertentu (Khairani., 2024).

b. Pembedahan dan Pemotongan Organ

Proses pembedahan dan pemotongan organ dilakukan untuk memperoleh sampel organ hewan uji. Agar meminimalisir kerusakan pada organ atau jaringan yang dikhawatirkan dapat mengganggu proses identifikasi, maka proses pembedahan dilakukan setelah 6-8 jam hewan uji mati. Pemotongan jaringan dilakukan sesuai dengan jenis jaringan dan besarnya jaringan, lalu dimasukkan kedalam kaset (Sumanto, 2014).

c. Fiksasi

Pengolahan spesimen jaringan dengan menambahkan *Neutral Buffer Formalin* (NBF) 10% merupakan tahap fiksasi. Fiksasi berfungsi untuk menjaga komponen sel serta jaringan seperti sel itu masih dalam keadaan hidup, tidak rusak, sehingga sediaan dapat diamati baik secara anatomis dan juga secara mikroskopis (Musyarifah dan Agus, 2018).

d. Pematangan Jaringan

Pematangan jaringan merupakan proses mengeluarkan air dan zat fiksatif yang ada di dalam jaringan dan menggantinya dengan media yang dapat mengeraskan jaringan, salah satunya yaitu parafin merupakan prinsip dasar pematangan jaringan sangat sederhana. Parafin tidak bisa langsung menggantikan air tersebut, melainkan harus melalui tahapan perantara (Khristian dan Inderiati, 2017).

1) Dehidrasi

Dehidrasi merupakan proses pengeluaran air dari dalam jaringan agar tidak bercampur dengan parafin atau zat lainnya yang dipakai untuk membuat blok preparat. Penggunaan alkohol bertingkat pada proses ini bertujuan untuk mengeluarkan air secara bertahap dari organ uji (Praharendra, 2015). Etanol, Etanol Aseton, Metanol, Isoprofil, Butanol, Glikol, dan Alkohol terdenaturasi merupakan contoh cairan dehidrasi yang biasa digunakan dalam proses dehidrasi (Khristian dan Inderiati, 2017).

2) Penjernihan (*Clearing*)

Proses *Clearing* bertujuan untuk menjernihkan jaringan dari berbagai komponen yang dapat mengganggu pada tahap pewarnaan. Cairan yang digunakan dalam proses *clearing* harus bisa menghilangkan alkohol yang ada di dalam jaringan sehingga jaringan akan diisi dengan cairan *clearing*. Sebagian besar agen *clearing* yang digunakan bersifat mudah terbakar, sehingga harus berhati-hati dalam penggunaannya (Sumanto, 2014). Agen *clearing* memiliki titik didih yang lebih rendah sehingga secara umum lebih mudah digantikan dengan paraffin (Khristian dan Inderiati, 2017).

Bahan atau reagen yang paling sering digunakan *chloroform*, *benzene/benzol*, *xylene/xylol*, *cedar wood oil*, *benzyl benzoate*, *methyl benzoate*. Cara kerja menggunakan *xylol* yang dipakai sebagai zat penjernih, adalah sebagai berikut:

- a) Jaringan dimasukkan ke dalam *xylol* I selama 1 jam setelah jaringan dikeluarkan dari cairan *dehidrasi* (alkohol).

- b) Perhatikan jaringan akan menjadi bening.
- c) Jaringan kemudian di pindahkan ke *xylol* II untuk meyakinkan bahwa seluruh cairan alkohol telah keluar. Lama *inkubasi* di dalam *xylol* itu tergantung pada besarnya jaringan, tetapi biasanya berkisar antara $\frac{1}{2}$ - 1 jam (Khristian dan Inderiati, 2017).

3) Infiltrasi

Infiltrasi merupakan proses yang dilakukan untuk memasukkan materi atau filtrat ke dalam jaringan, sehingga jaringan tersebut dapat mengeras akibat filtrat tersebut di suhu ruang. Mekanisme masuknya filtrat kedalam sel yaitu menggantikan cairan penjernihan dengan tingkat kecairannya. *Paraffin* adalah agen infiltrasi yang paling banyak digunakan. *Paraffin* sendiri memiliki titik lebur yang rendah yaitu berkisar antara 47°C sampai 64°C (Khristian dan Inderiati, 2017).

e. Pembuatan blok parafin (*Embedding*)

Pembuatan blok parafin perlu memperhatikan orientasi jaringan sehingga dapat diperoleh jaringan yang representatif. Pembuatan blok paraffin harus yakin seluruh jaringan berada di permukaan base mole sehingga akan muncul secara utuh dalam pemotongan dengan mikrotom. Sebelum dilakukan pemotongan, blok paraffin didinginkan pada lempeng pendingin/lemari es (Soesilawati, 2020).



Sumber: (Khristian dan Indriati, 2017)

Gambar 2. 3 Jantung mencit didalam blok parafin.

f. Pemotongan Jaringan

Proses untuk mengiris blok sediaan dengan ketebalan tertentu disebut dengan proses pemotongan jaringan. Mikrotom merupakan alat yang digunakan untuk menghasilkan potongan jaringan yang tipis sehingga dapat diamati pada mikroskop (Khristian dan Inderiati, 2017).

1) Potong Kasar (*Trimming*)

Trimming merupakan proses awal pemotongan blok jaringan yang memiliki tujuan untuk membuang kelebihan paraffin yang menutupi jaringan, sehingga permukaan jaringan dapat terbuka sehingga dihasilkan pita jaringan yang utuh. Mikrotom diatur dengan ketebalan yang cukup tinggi yaitu 15-30 μm . Proses pengerjaan *trimming* yang salah dapat menghasilkan artefak (lipatan) pada jaringan, sehingga sel tidak terbaca (Khristian dan Inderiati, 2017).

2) Potong halus (*Section*)

Tujuan dari proses potong halus yaitu untuk menghasilkan ketebalan tertentu terhadap pita jaringan. Blok jaringan yang akan dipotong harus didinginkan terlebih dahulu untuk memberikan suhu yang stabil pada blok. Ketebalan pita jaringan yaitu 3-4 μm . Pita yang dihasilkan umumnya akan memiliki ketebalan yang berbeda, hal ini dapat disebabkan oleh suhu, sudut penempatan pisau, dan juga kecepatan dalam pemotongan (Khristian dan Indriati, 2017).

g. *Floating* (pengembangan pita parafin)

Floating merupakan proses pengembangan pita paraffin dengan menggunakan waterbath berisi air dengan suhu tidak lebih dari 60°C sebelum kemudian ditempelkan ke kaca slide. Slide yang telah tertempel pita parafin perlu ditiriskan dengan posisi miring secukupnya untuk mencegah gelembung udara yang akan membuat lubang. Proses *floating* ini bertujuan untuk membantu mengurangi lipatan yang terjadi pada pita jaringan (Khristian dan Inderiati, 2017).

h. Pewarnaan Sediaan

Pewarna ini terdiri dari 2 zat pewarna, yaitu hematoxylin dan eosin. Proses pewarnaan ini dapat memperlihatkan struktur dan morfologi jaringan, serta melihat keberadaan dan prevalensi dari sel-sel jaringan tertentu (Khristian dan Inderiati, 2017).

1) Deparafinisasi

Deparafinisasi merupakan merendam jaringan ke dalam *xylol* yang memiliki tujuan untuk menghilangkan parafin yang ada pada jaringan (Khristian dan Inderiati, 2017).

2) *Rehidrasi*

Rehidrasi merupakan tahapan yang dilakukan untuk penarikan air dari dalam jaringan dengan menggunakan alkohol konsentrasi tinggi ke konsentrasi rendah (Khristian dan Inderiati, 2017).

3) Hematoxylin (Pewarnaan Inti Sel)

Hematoxylin berasal dari bahasa Yunani yang terdiri dari *haimatodec* (darah) serta *Xylol* (kayu). Hematoxylin digunakan sebagai pewarna dasar dengan warna biru keunguan pada struktur jaringan yang terwarnai yaitu pada bagian inti sel. Pewarnaan Hematoxylin memiliki sifat asam basa sehingga jaringan akan berikatan dengan komponen asam basa tersebut (Khristian dan Inderiati, 2017).

4) Eosin (Pewarnaan Sitoplasma)

Pewarnaan Eosin merupakan pewarna yang memiliki sifat asam dan bermuatan negatif yang digunakan untuk mewarnai sitoplasma. Sitoplasma dan jaringan ikat akan menjadi bernuansa merah muda jika terwarnai oleh eosin. Eosin juga mewarnai inti sel menjadi warna merah muda (Khristian dan Inderiati, 2017).

5) Dehidrasi

Proses pengembalian suasana jaringan menjadi suasana alkohol merupakan proses dehidrasi. Proses dehidrasi dilakukan dengan merendam sediaan ke dalam cairan alkohol dengan konsentrasi dari 70%, 80%, dan 90% (Khristian dan Inderiati, 2017).

6) *Clearing*

Clearing merupakan proses mengeluarkan kandungan alkohol secara maksimal pada sediaan jaringan dengan menggunakan *xylol* untuk mendapatkan hasil pewarnaan yang baik (Sumanto, 2014).

i. *Mounting*

Mounting merupakan proses penempelan deckglass pada kaca preparat jaringan dengan menggunakan perekat (entellan). Proses *mounting* harus dilakukan dalam kondisi sediaan basah oleh larutan *xylol* agar benar-benar menyatu dengan jaringan (Sumanto, 2014). Pemberian entellan dalam kondisi sediaan kering akan menyebabkan timbulnya bintik hitam pada mikroskopis sediaan (Khristian dan Inderiati, 2017).

3. *Xylol*

Xylol merupakan bahan kimia yang digunakan sebagai gold standard proses *clearing* yang memiliki rumus molekul $C_6H_4(CH_3)_2$, bahan ini berbentuk cairan tidak berwarna dan berbau seperti benzene. *Xylol* cocok untuk dijadikan cairan penjernih pada blok paraffin rreedengan ketebalan kurang dari $5\mu m$ dan cepat untuk menggantikan alkohol dari jaringan. *Xylol* merupakan cairan yang paling sering digunakan di laboratorium histopatologi rutin. *Xylol* terdiri dari enam karbol yang mengikat dua gugus metil, dan *xylol* terbentuk dalam tiga isomer: orto-, meta-, dan para-xilena (Kandyala, 2010)

Xylol memiliki sifat yang mudah terbakar dan tidak berwarna dengan aroma khas minyak bumi, larut dengan sebagian pelarut organik dan lilin parafin. *Xylol* memiliki dampak yang kurang baik bagi kesehatan jika sering terpapar oleh tubuh. Akibat dari paparan *xylol* yang dapat terjadi antara lain pusing, muntah, insomnia, kulit mengelupas dan menyebabkan kanker (Pandey dan Tripathi, 2014). Sehingga dalam upaya mengurangi dampak buruk *xylol* terhadap kesehatan perlu adanya bahan alternatif yang menggunakan bahan ramah lingkungan dan aman untuk penggunaan jangka panjang (Pratiwi, 2021)



Sumber: (E-katalog, 2022)

Gambar 2. 4 *Xylol*

4. Minyak Kacang Tanah

Minyak kacang tanah adalah minyak nabati (berasal dari tumbuhan) yang dapat digunakan sebagai bahan pangan (*edible purpose*) dan bahan non pangan (*non edible purpose*). Minyak kacang tanah didapat dengan proses ekstrak dengan mengeringkan kacang yang sudah tua (Hilman, 2014).

Komposisi kimia kacang tanah yang sudah matang (cukup tua) mempunyai ukuran panjang antara 1,25 – 7,50 cm dengan berbentuk silinder. Setiap potong kacang tanah dari kulit (*shell*) 21 – 29 %, daging biji (*kernel*) 69-72 , 40 %. Dari jumlah 9,1 persen kadar nitrogen kacang tanah, sebesar 8,74 persen diantaranya terdiri dari fraksi albumen, gluten dan globulin. Kacang tanah mengandung asam-asam amino esensial, yaitu arginin (2,72 %), fenilalanin (1,52 %), histidin (0,51 %), isoleusin (0,99 %), leusin (1,92 %), lisin (1,29 %), methionin (0,33%), tritophan (0,21 %) dan valin (1,33 %) (Hilman, 2014).

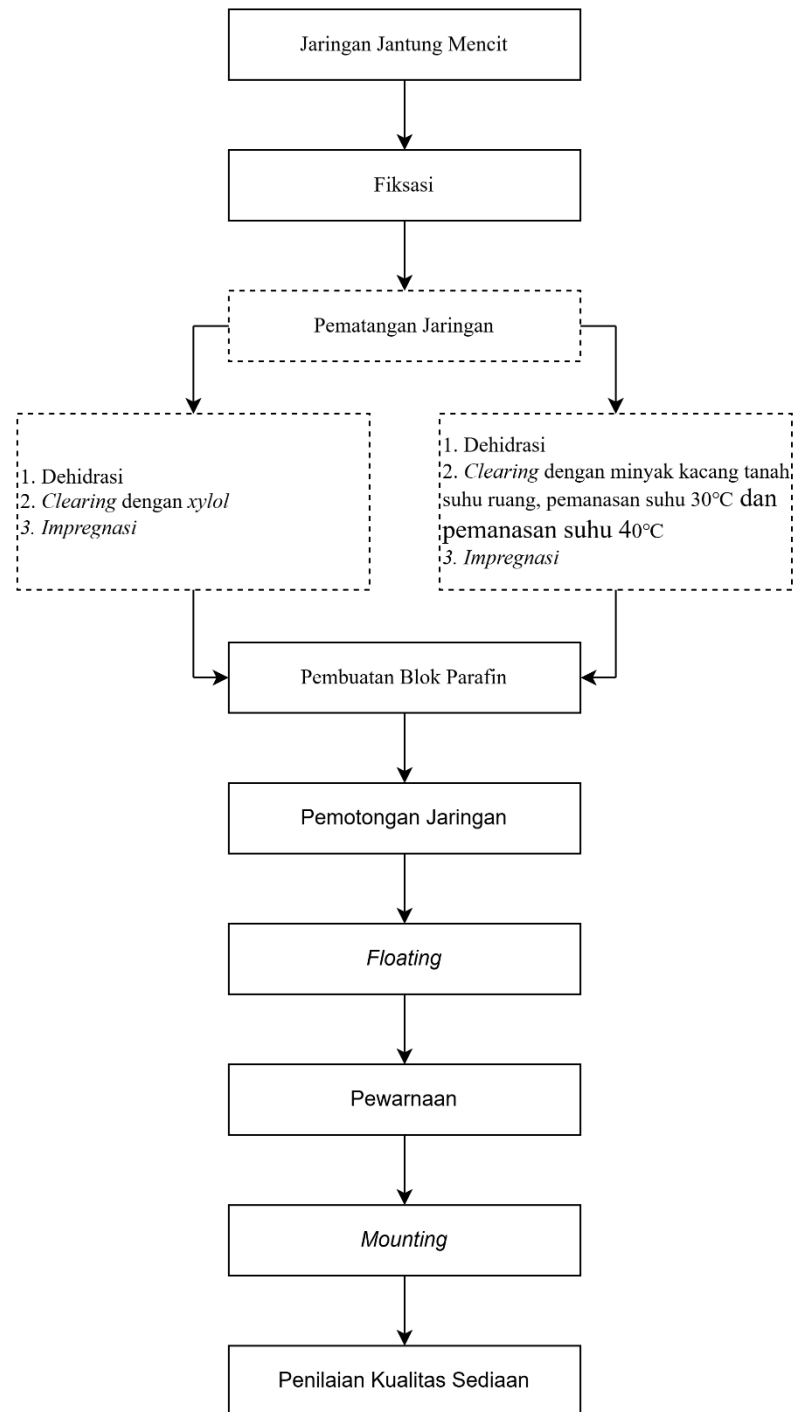
Minyak kacang tanah mengandung 76-82 % asam lemak tak jenuh, yang terdiri dari 40-45 % asam oleat dan 30-35 % asam linoleat. Asam lemak jenuh sebagian besar terdiri dari asam palmitat, sedangkan kadar asam miristat sekitar 5 %. Kandungan asam linoleat yang tinggi akan menurunkan kestabilan minyak. Kestabilan minyak akan bertambah dengan cara hidrogenasi atau dengan penambahan anti-oksidan. Dalam minyak kacang tanah terdapat persenyawaan tokoferol yang merupakan anti-oksidan alami dan efektif dalam menghambat proses oksidasi minyak kacang tanah (Hilman, 2014).



Sumber: (Ramadhan, 2014).

Gambar 2. 5 Minyak kacang tanah

4) Kerangka Teori

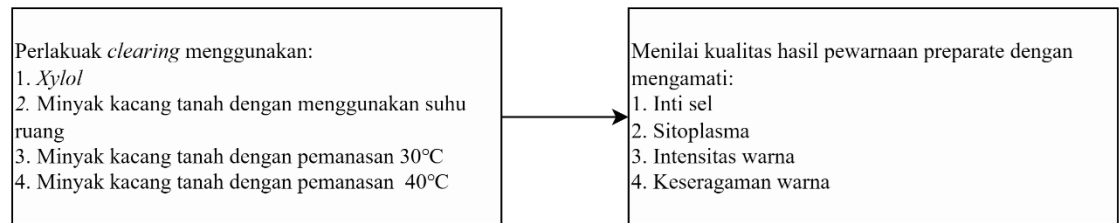


Keterangan:

: Diteliti

: Tidak Diteliti

5) Kerangka Konsep



6) Hipotesis

- H0: Tidak ada perbedaan signifikan antara kualitas pewarnaan jaringan jantung mencit yang di *clearing* menggunakan minyak kacang tanah (*Peanut Oil*) menggunakan suhu kamar, pemanasan suhu 30°C, dan pemanasan 40°C dengan *Xylol*.
- H1: Ada perbedaan signifikan antara kualitas pewarnaan jaringan jantung mencit yang di *clearing* menggunakan minyak kacang tanah (*Peanut Oil*) menggunakan suhu kamar, pemanasan suhu 30°C, dan pemanasan 40°C dengan *Xylol*.